



<p>(51) Internationale Patentklassifikation <sup>6</sup> : <b>C12Q 1/68</b></p>	<b>A2</b>	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: <b>WO 99/57310</b></p> <p>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: <b>11. November 1999 (11.11.99)</b></p>
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: <b>PCT/EP99/02918</b></p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: <b>29. April 1999 (29.04.99)</b></p> <p>(30) Prioritätsdaten:                    <b>198 19 537.0</b>            <b>30. April 1998 (30.04.98)</b>            <b>DE</b></p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): <b>BIOCHIP TECHNOLOGIES GMBH [DE/DE]; Engesserstrasse 4b, D-79108 Freiburg (DE).</b></p> <p>(72) Erfinder; und</p> <p>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): <b>BERNAUER, Hubert, S. [DE/DE]; Webergasse 38, D-79249 Merzhausen (DE).</b></p> <p>(74) Anwalt: <b>VOSSIUS &amp; PARTNER; Siebertstrasse 4, D-81675 München (DE).</b></p>	<p>(81) Bestimmungsstaaten: <b>AE, AL, AM, AT, AT (Gebrauchsmuster), AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE (Gebrauchsmuster), DK, DK (Gebrauchsmuster), EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</b></p> <p><b>Veröffentlicht</b>  <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i></p>	

(54) Title: **INSTRUMENT FOR ANALYSIS AND DIAGNOSTICS**

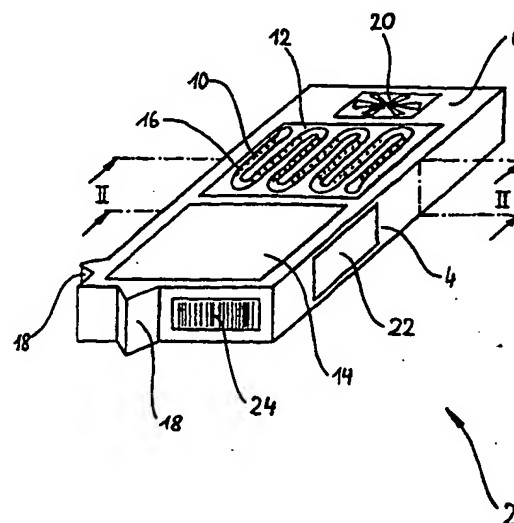
(54) Bezeichnung: **ANALYSE- UND DIAGNOSTIKINSTRUMENT**

(57) Abstract

The invention relates to an analysis and diagnostics instrument - an analysis chip for examining biological samples. Said analysis chip essentially consists of a support on whose surface at least one biomolecular matrix is applied in the form of dots, each dot in the matrix representing an individual species of molecule. The biological sample to be examined is allowed to flow through a microfluidic structure. Preferably at least one medium is provided on the surface of the support, the biomolecular matrix being located on said medium. The analysis chip also has an optical lens field and optionally, optical gratings which are arranged in such a way as to correspond to the biomolecular matrix. An analysis of the biological sample can then be carried out by real-time measurement of the hybridisation with detection of the mass attachment or detection of fluorochrome molecules which were previously built into the probe material.

(57) Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft ein Analyse- bzw. Diagnostikinstrument - kurz Analysechip - mit dem biologische Proben untersucht werden können. Der Analysechip besteht im wesentlichen aus einem Träger, auf dessen Oberfläche mindestens eine Biomolekülmatrix in Form von Dots aufgebracht ist, wobei jeder Punkt der Matrix eine individuelle Molekülspezies repräsentiert und die zu untersuchende biologische Probe durch eine mikrofluidische Struktur strömt. An der Oberfläche des Trägers ist vorzugsweise mindestens ein Medium vorgesehen, auf dem sich die Biomolekülmatrix befindet. Der Analysechip weist ferner ein optisches Linsenfeld und gegebenenfalls entsprechend der Biomolekülmatrix angeordnete optische Gitter auf, so dass eine Auswertung der biologischen Probe durch Echtzeit-Messung der Hybridisierung mit einem Nachweis der Massenlagerung oder ein Nachweis von Fluorochrommolekülen, die zuvor in das Sondenmaterial eingebaut wurden, möglich ist.



### LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidsschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

### Analyse- und Diagnostikinstrument

Die Erfindung betrifft ein Analyse- und Diagnostikinstrument zur Untersuchung von biologischen Proben, insbesondere von DNA-Molekülen.

Im Bereich der biologischen und medizinischen Labortechnik ist eine Reihe von Analyse- bzw. Diagnostikinstrumenten bekannt. In bestimmten Ausgestaltungen werden diese üblicherweise auch als Analysechips bezeichnet. Ist der Analysechip zur Untersuchung von DNA-Molekülen vorgesehen, so nennt man ihn DNA-Analysechip, DNA-Array oder DNA-Grid. Die Begriffe Analysechip und Analyse- und Diagnostikinstrument werden im weiteren synonym verwendet.

Herkömmliche Analysechips bestehen üblicherweise im wesentlichen aus einem Trägermaterial, in dessen Oberfläche Mulden geätzt sind, in die im Fall einer DNA-Analyse verschiedene DNA-Moleküle eingebunden sind. Durch das Inkontaktbringen einer zu untersuchenden DNA-Probe auf die in den Mulden ge-

1 bundenen DNA-Moleküle kann es zu einer Hybridisierung kommen, die Signale über die An- bzw. Abwesenheit und gegebenenfalls die Konzentration von Nucleinsäuren in der Hybridisierungslösung liefern. Ein spezieller Analysator liest die  
5 Hybridisierungsdaten dann aus. Der Nachweis der Hybridisierungsreaktion erfolgt herkömmlicherweise durch optische Verfahren, wie beispielsweise durch Lichteinkopplung über ein Gitter. Bei der Massenanlagerung wird das evaneszente Feld gestört, wodurch eine Störung im Fernfeld meßbar ist. Herkömmliche Analysechips benutzen als Trägermaterial im allgemeinen Silizium, das ein nicht-transparentes Medium enthält,  
10 auf dem die DNA-Moleküle in den Mulden gebunden sind.

15 Analoge, nicht hochintegrierte Systeme, wie ELISA-Systeme, haben insbesondere die Nachteile, daß die zu untersuchende biologische Probe auf jedes Referenzmolekül in den Mulden einzeln aufgebracht werden muß, die Lichteinkopplung zum Nachweis der Hybridisierungsreaktion ineffizient ist, eine Justierung des Analysechips im Analysator schwierig ist, die  
20 Verwaltung und Prozessierung von Daten und Parametern aufwendig ist und die Kosten für die Herstellung und den Betrieb sehr hoch sind.

Der Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, ein verbessertes Analyse- bzw. Diagnostikinstrument bzw. -verfahren  
25 zur Verfügung zu stellen.

Zur Lösung dieser Aufgabe geht die Erfindung von dem Grundgedanken aus, einen Analysechip zur Untersuchung von biologischen Proben bereitzustellen, der im wesentlichen aus  
30 einem Träger besteht, auf dessen Oberfläche mindestens eine Biomolekülmatrix aus einzelnen Punkten (Dots) auf einen Boden einer mikrofluidischen Struktur, wie z.B. einer Mäanderstruktur, oder eine planare Oberfläche aufgebracht ist. Die zu untersuchende biologische Probe wird an einem Ende der  
35 mikrofluidischen Struktur aufgebracht und strömt entlang dieser Struktur zum anderen Ende, wobei die Probe beim Überströmen der jeweiligen Matrixpunkte, die jeweils eine indi-

1 viduelle Molekülspezies repräsentieren, bestimmte Reaktionen  
auslöst.

Diese Reaktion ist, sofern eine Nucleinsäure nachgewiesen  
werden soll, üblicherweise eine Hybridisierungsreaktion. Je  
5 nach Einstellen der Hybridisierungsbedingungen (stringente  
oder nicht-stringente Hybridisierungsbedingungen) sind Mole-  
küle in der Probe detektierbar, die einen mehr oder weniger  
großen Ähnlichkeits- bzw. Homologiegrad mit der komplementä-  
ren Molekülspezies auf der Oberfläche oder einem Teil davon  
10 aufweisen. Derartige Hybridisierungsbedingungen hängen bei-  
spielsweise von der Temperatur oder der Salzkonzentration in  
der Probe ab und können vom Fachmann nach üblichen Verfahren  
eingestellt werden. So kann beispielsweise die Salzkonzen-  
tration in einer Probe eingestellt werden. Die Einstellung  
15 von Hybridisierungsbedingungen ist im Stand der Technik be-  
kannt und kann z.B. auf der Basis der Lehre in Hames und  
Higgins, "Nucleic acid hybridisation, a practical approach",  
IRL Press, Oxford 1985 erfolgen.

20 Ist das in der biologischen Probe nachzuweisende Molekül ein  
Protein oder Peptid, so stehen dem Fachmann eine Reihe von  
Möglichkeiten zur Verfügung, wie er dieses mit dem erfin-  
dungsgemäßen Analysechip nachweisen kann. Eine Möglichkeit  
ist die Einbindung des Moleküls in einen Antikörper-Sand-  
25 wich, wobei der nicht an die Oberfläche fixierte Antikörper  
(oder ein Derivat davon) vorzugsweise nachweisbar markiert  
ist.

Selbstverständlich sind erfindungsgemäß auch andere Mole-  
30 külartern in einer biologischen Probe mit dem Analysechip  
nachweisbar.

Der Begriff "biologische Probe", wie erfindungsgemäß verwen-  
det, bedeutet im weitesten Sinne, daß die Probe biologisches  
35 Material wie Nucleinsäuren oder Proteine oder Derivate oder  
Fragmente davon enthält. Nucleinsäuren können beispielsweise  
durch Verfahren der rekombinanten DNA-Technologie modifi-

1 ziert, fragmentiert etc. worden sein. Proteine können z.B.  
aus einer natürlichen Quelle vor der Analyse angereichert  
worden sein. In einer Ausführungsform wird die Probe aus  
einer natürlichen Quelle direkt in die Analyse überführt.

5 Zur erleichterten Datenverwaltung und -verarbeitung weist  
der Analysechip ferner ein Speichermedium auf.

10 Das erfindungsgemäße Analyse- bzw. Diagnostikinstrument hat  
gegenüber dem Stand der Technik insbesondere die Vorteile,  
daß die zu untersuchende Probe nur an einer Stelle auf die  
mikrofluidische Struktur aufgebracht werden muß, wodurch die  
Verfahrenszeit erheblich reduziert werden kann, es auf ein-  
fache und kostengünstige Weise herstellbar ist, da die  
15 mikrofluidische Struktur gleichzeitig mit dem Träger herge-  
stellt werden kann, die theoretische Signalstärke durch die  
Mikrostrukturierung im Bereich der Proben verstärkt werden  
kann, ein effizienterer Reaktionsnachweis möglich ist,  
und/oder fertigungsrelevante und/oder sonstige Daten, wie  
20 z.B. Konfiguration, Fertigungslos, Nullkontrolldaten, Pati-  
entendaten, Verfallsdatum, Analyseergebnisse und ähnliches  
direkt auf dem Analysechip gespeichert werden können. Ein  
weiterer Vorteil besteht darin, daß die Ergebnisse der Ana-  
lyse, aufgrund einer vorzugsweise mindestens doppelt redun-  
25 dant vorhandenen Matrix, mit erheblich höherer Sicherheit  
festgestellt werden können. Ferner erfolgt die Analyse mit  
hoher Integrationsdichte und hoher Parallelität. Es sind nur  
kleine Volumina der Proben erforderlich. Weitere Vorteile  
sind die Miniaturisierung des Analysechips, die Möglichkeit  
30 einer Realtime- und/oder Online-Auswertung zeitgleich mit  
der Hybridisierungsreaktion.

Die Erfindung wird im folgenden anhand einer bevorzugten  
Ausführungsform beispielhaft beschrieben. In den Zeichnungen  
35 zeigt:

- 1 Fig. 1 ein Raumbild eines Analysechips gemäß der Erfindung;  
Fig. 2 einen Schnitt entlang der Fläche II-II von Fig. 1  
zur Verdeutlichung der Lichteinkopplung zum Nachweis  
von Fluorochrommolekülen;  
5 Fig. 3 das Detail III aus Fig. II; und  
Fig. 4 das Prinzip der Lichteinkopplung zum Nachweis der  
Massenanlagerung.

10 Das in Fig. 1 dargestellte Analyse- bzw. Diagnostikinstru-  
ment 2 - kurz Analysechip - besteht im wesentlichen aus  
einem Träger oder Tragrahmen 4, der im Querschnitt z.B. ein  
U-förmiges Profil aufweist, das an seinen Enden geschlossen  
ist, so daß unter einer Oberfläche 6 ein Hohlraum 8 vorgese-  
15 hen ist. Auf der Oberfläche 6 des Trägers 4 ist eine mikro-  
fluidische Struktur, z.B. eine Mäanderstruktur 10 vorgese-  
hen, die in den Träger 6 oder bevorzugt in mindestens ein  
vorzugsweise transparentes Medium 12 und 14 eingelassen ist.  
Dieses transparente Medium 12 und 14 ist z.B. ein Einsatz  
20 aus Glas, Quarzglas, Kunststoff, Silizium, Silikaten. Die  
Mäanderstruktur 10 ist so ausgebildet, daß darin Punkte  
(Dots) 16 einer Biomolekülmatrix aufgebracht werden können,  
wobei jeder Punkt 16 der Matrix vorzugsweise eine individu-  
elle Molekülspezies (DNA, RNA, Proteine, Peptide, Poly-  
25 saccharide usw. repräsentiert. Die Mäanderstruktur 10 mit  
den Dots 16 ist auf dem Analysechip 2 mindestens einmel vor-  
handen, nämlich auf dem Medium 12, vorzugsweise jedoch min-  
destens doppelt redundant, also auch mindestens auf dem Me-  
dium 14 oder weiteren Medien (nicht dargestellt).

30 Ebenso ist es möglich, die Oberfläche des Analysechips bzw.  
des Mediums 12 und 14 planar auszugestalten (ohne mikroflui-  
dische Struktur) und die mindestens eine Biomolekülmatrix  
darauf vorzusehen. In diesem Fall weist dann eine der Biomo-  
lekülmatrix gegenüberliegende Fläche, die das fluidische Vo-  
35 lumen mit der zu untersuchenden Probe enthält, die mikro-  
fluidische Struktur auf. Der Analysechip 2 wird dann zur

1 Analyse auf diese Fläche aufgesetzt. Die mikrofluidische  
Struktur 10 kann ferner sowohl auf der Oberfläche 6 des Ana-  
lysechips 2 als auch auf der gegenüberliegenden Fläche vor-  
gesehen sein.

5 Der Träger 4 des Analysechips ist vorzugsweise ein Kunst-  
stoff, der durch Mikrospritzguß hergestellt wird. Als Trä-  
germaterialien eignen sich insbesondere Derivate von Poly-  
carbonat. Die kovalente Kopplung von Biomolekülen erfolgt  
10 vorzugsweise an semifluidischen, gelartigen Polymeroberflä-  
chen im Bereich der Proben (z.B. Polymerbrush). Die Poly-  
meroberflächen besitzen eine eigene Hydrodynamik, wodurch  
den Polymeroberflächen besondere hydrodynamische Eigenschaf-  
ten verliehen werden und das Verhältnis zwischen Signal und  
15 Hintergrundrauschen positiv beeinflußt wird. Semifluidische  
Polymeroberflächen sind direkt auf der Oberfläche 6 des Ana-  
lysechips synthetisiert und können als Nano- bis Mikrostruk-  
turierung von Oberflächen i.a. als Polymerbrushes bezeichnet  
werden. Die theoretische Signalstärke wird durch die semi-  
20 fluidische Oberflächenstrukturierung im Bereich der Proben  
verstärkt.

Zum Betrieb des Analysechips wird z.B. genetisches Material  
25 aus einer zu untersuchenden biologischen Probe isoliert,  
spezifisch amplifiziert und gegebenenfalls markiert. Das so  
gewonnene Sondenmaterial wird mittels einer Vorrichtung,  
z.B. einer Pipette oder Spritze, auf ein Ende der Mäander-  
struktur 10 des Analysechips 2 aufgebracht. Die zu untersu-  
30 chende biologische Probe bzw. das genetische Material über-  
strömt entlang der Mäanderstruktur 10 die einzelnen Punkte  
16 der Biomolekülmatrix, die jeweils eine individuelle Mole-  
külspezies repräsentieren, und hybridisiert im Fall von min-  
destens teilweise komplementären Biomolekülen.



1 Zur Analyse und Auswertung der Daten des Analysechips 2 ste-  
hen dem Fachmann eine Reihe von Verfahren zur Verfügung.  
Zwei prinzipielle Verfahren werden erfindungsgemäß bevor-  
zugt. Einerseits kann die Auswertung durch eine Echt-Zeit-  
5 Messung der Hybridisierung durch Nachweis der Massenanlage-  
rung erfolgen, indem der Analysechip mit einem Gitterkoppler  
versehen ist, der eine Störung des evaneszenten Felds verur-  
sacht. Andererseits besteht die Möglichkeit, durch visuelle  
oder opto-chemische Mittel nachweisbare Moleküle zwei Fluo-  
10 rochrommoleküle nachzuweisen, die z.B. in das Sondenmaterial  
(DNA, RNA) vor der Analyse eingebaut wurden.

Der in den Figuren 1 bis 3 dargestellte Analysechip gemäß  
der Erfindung ist insbesondere für fluorochrommarkierte  
15 Systeme geeignet. Der in Fig. 4 dargestellte Analysechip ist  
zur Auswertung mit einem Hybridisierungsnachweis durch Mas-  
senanlagerung geeignet.

Der Analysechip 2 weist am Außenrand des Trägers 4 Justier-  
20 mittel 18, wie z.B. Justiernasen oder -einbuchtungen, auf,  
so daß der beim Einlegen in einen Analysator (nicht darge-  
stellt) zur Auswertung der Untersuchung genau justierbar  
ist. Dies ist insbesondere deshalb vorteilhaft, weil die  
25 einzelnen Dots 16 der Biomolekülmatrix sowie die Schleifen  
der Mäanderstruktur 10 vorzugsweise selbst relativ dicht  
beieinander liegen, z.B. mit einem Abstand zwischen 100 und  
500  $\mu\text{m}$ . Es wird sichergestellt, daß die einzelnen Punkte 16  
des Analysechips 2 mit entsprechenden Auswerteelementen des  
30 Analysators korrespondieren.

Der Analysechip 2 weist ferner mindestens ein Speichermedium  
auf, das Betriebsdaten, fertigungsrelevante Daten wie z.B.  
Konfiguration, Fertigungslos, Null-Kontrolldaten,  
eingegebene Patientendaten, das Verfallsdatum,  
35 Analyseergebnisse und weitere Hilfsdaten speichern kann. Das  
Speichermedium ist vorzugsweise ein elektronischer

1 Speicherchip 20, ein Magnetstreifen 22 und/oder ein Barcode  
24, kann jedoch auch jedes andere bekannte Speichermedium,  
wie z.B. ROM oder RAM, sein.

5 Der in den Figuren 2 und 3 dargestellte Analysechip 2 weist  
neben den mit Bezug auf Fig. 1 beschriebenen Merkmalen die  
für den Nachweis von Fluorochrommolekülen vorteilhaften  
Merkmale auf.

10 Die Analyse einer biologischen Probe in der Mäanderstruktur  
10 des Analysechips 2 erfolgt dadurch, daß in einem Analysa-  
tor der Analysechip 2 von der der Mäanderstruktur 16 abge-  
wandten Seite, d.h. vom Hohlraum 8, beleuchtet wird, was in  
Form des Pfeils 26 schematisch dargestellt ist. Die Unter-  
15 seite 28 der Oberfläche 6 ist vorzugsweise mit einem opti-  
schen Linsenfeld 30 versehen, das eine konfokale Beleuchtung  
ermöglicht. Das Linsenfeld 30 ist vorzugsweise so ausgebil-  
det, daß es sich genau unterhalb der Mäanderstruktur 10,  
insbesondere genau unterhalb der Dots 16 befindet, so daß  
20 die in Fig. 3 dargestellte Beleuchtung der einzelnen Dots 16  
ermöglicht wird. Das Linsenfeld 30 und der Träger 4 des Ana-  
lysechips 2 können aus einem einheitlichen Material beste-  
hen, das in einem Schritt z.B. durch Mikrospritzguß herge-  
stellt werden kann. Vorzugsweise befindet sich das Linsen-  
25 feld 30 jedoch auf der Unterseite 28 des in den Träger 4  
eingelegten transparenten Mediums 12 bzw. 14.

Die Beleuchtung 26 von der Unterseite 28 des Analysechips 2  
bringt insbesondere den Vorteil, daß die Intensität der  
30 Lichtquelle reduziert werden kann, da die Lichtstrahlen kei-  
nen Strahlteiler durchlaufen müssen. Das einfallende Licht  
26 wird durch die Linsen des Linsenfelds 30 auf die einzel-  
nen Punkte 16 der Biomolekülmatrix fokussiert, wodurch die  
Dots 16, die mit der zu untersuchenden Probe eine Reaktion  
35 hervorgerufen haben, durch die Fluorochrommoleküle Fluores-  
zenz bewirken. Weitere Möglichkeiten zum Nachweis der

1 Moleküle beruhen auf dem Prinzip der Biolumineszenz, z.B.  
Phosphoreszenz, radioaktiven Markierungen, die durch  
Auflegen von Röntgenfilmen nachgewiesen werden können. Durch  
eine geeignete Auswerteschaltung, z.B. eine opto-  
5 elektronische Schaltung, kann dann eine weitere Verarbeitung  
der gewonnenen Daten bezüglich der zu analysierende Probe  
erfolgen. Diese Daten können zusammen mit dem in dem  
Speichermedium gespeicherten Daten weiter verarbeitet  
und/oder in den Speicher des Analysechips 2 geschrieben  
10 werden.

Fig. 4 zeigt die Lichteinkopplung für Analysechips, bei  
denen der Hybridisierungsnachweis über den Nachweis der Mas-  
senanlagerung erfolgt. Dazu wird ein optisches Verfahren  
15 benutzt, bei dem die Lichteinkopplung über eine Vielzahl von  
Gittern 32 erfolgt, wodurch das evaneszente Feld beeinflusst  
wird. Diese Beeinflussung ist im Fernfeld 39 meßbar. Jedem  
Punkt 16 der Biomolekülmatrix in der mikrofluidischen Struk-  
tur 10 ist exakt ein optisches Gitter 32 zugeordnet, so daß  
20 die Effizienz der Lichteinkopplung erheblich erhöht werden  
kann. Das Licht 34 einer Beleuchtungsquelle wird über ein  
zweidimensionales Linsenfeld 36 oder über ein zweidimensio-  
nales Fresnel-Linsenfeld, z.B. ein Hologramm oder diffrak-  
tive Optik, auf die in der Matrix angeordneten Gitter 32 fo-  
25 kussiert. Dadurch kann ein effizienter Hybridisierungsnach-  
weis durch den Nachweis der Massenanlagerung erzielt werden,  
wenn eine Auswertung des Fernfelds erfolgt. Die gewonnenen  
Analysedaten können zusammen mit den im Speichermedium ge-  
speicherten Daten in einem Analysator (nicht dargestellt)  
30 durch Verwendung geeigneter Auswerteschaltungen, z.B. opto-  
elektronische Schaltungen, weiter verarbeitet und/oder in  
den Speicher des Analysechips 2 geschrieben werden.

1 Die optischen Gitter 32 wurden vorzugsweise zusammen mit den  
jeweiligen Punkten 16 der Biomolekülmatrix, die jeweils eine  
individuelle Molekülspezies (DNA, RNA, Proteine, Peptide,  
5 Polysaccharide usw.) repräsentieren, in die mikrofluidische  
Struktur 10 eingebracht. Die zu untersuchende biologische  
Probe durchläuft die mikrofluidische Struktur 16 (Mäander-  
struktur) z.B. in Richtung der Pfeile 38. das Linsenfeld 36  
befindet sich auf der von der Biomolekülmatrix abgewandten  
10 Seite des Gitters 32. Es kann, ähnlich wie zuvor mit Bezug  
auf die Figuren 2 und 3 beschrieben, ebenfalls im Hohlraum 8  
des Analysechips 2 vorgesehen sein. Ebenso kann es zusammen  
mit dem Träger 4 aus einem einheitlichen Material bestehen,  
oder, vorzugsweise, an den transparenten Medien 12 und 14  
vorgesehen sein.

15 Neben den mit Bezug auf die Figuren 2 bis 4 beschriebenen  
Auswerteverfahren zur Auswertung der Analysechips 2 ist der  
erfindungsgemäße Analysechip ebenso für weitere, nicht näher  
beschriebene Auswerteverfahren geeignet.

20 Die Ausbildung der mikrofluidischen Struktur 16 als Mäander-  
struktur ist lediglich exemplarisch, es sind vielmehr auch  
beliebige andere mikrofluidische Strukturen, wie z.B. eine  
Baumstruktur möglich.

25

30

35

## Patentansprüche

1. Analysechip (2) zur Untersuchung von biologischen Proben, der einen Träger (4) aufweist, auf dessen Oberfläche (6) mindestens eine Biomolekülmatrix (16) durch kovalente Kopplung von Biomolekülen an semifluidische, gelartige Polymeroberflächen im Bereich der Proben aufgebracht ist.
2. Analysechip (2) zur Untersuchung von biologischen Proben, der einen Träger (4) aufweist, auf dessen Oberfläche (6) mindestens eine Biomolekülmatrix (16) aufgebracht ist, wobei die zu untersuchende biologische Probe über jede Biomolekülmatrix (16) strömt und der Analysechip (2) mindestens ein Speichermedium (20, 22, 24) aufweist.
3. Analysechip (2) nach Anspruch 1 oder 2, wobei der Träger (4) aus einem Kunststoff hergestellt ist.
4. Analysechip (2) nach Anspruch 3, wobei der Kunststoff insbesondere ein Derivat von Polycarbonat ist.
5. Analysechip (2) nach Anspruch 4, wobei die Biomolekülmatrix (16) durch kovalente Kopplung von Biomolekülen an semifluidische, gelartige Polymeroberflächen im Bereich der Proben aufgebracht ist.
6. Analysechip (2) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Biomolekülmatrix einzelne Dots (16) aufweist.
7. Analysechip (2) nach Anspruch 6, wobei jeder Dot (16) der Biomolekülmatrix eine individuelle Molekülspezies repräsentiert.

- 1 8. Analysechip (2) nach einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei  
die Oberfläche (6), auf der die Biomolekülmatrix (16)  
aufgebracht ist, planar ist.
- 5 9. Analysechip (2) nach einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei  
die Oberfläche (6) eine mikrofluidische Struktur (10)  
aufweist, in der die Biomoleküle vorgesehen sind.
- 10 10. Analysechip (2) nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
wobei der Träger (4) mindestens ein Medium (12, 14) auf-  
weist, auf dem sich die Biomolekülmatrix (16) befindet.
- 15 11. Analysechip (2) nach Anspruch 10, wobei das Medium (12,  
14) Glas, Quarzglas, ein Kunststoff oder Silicium-Sili-  
kat ist.
- 20 12. Analysechip (2) nach einem der Ansprüche 1 bis 11, wobei  
der Analysechip ferner mindestens ein Speichermedium  
(20, 22, 24) aufweist.
- 25 13. Analysechip (2) nach einem der Ansprüche 1 bis 12 oder  
12, wobei das Speichermedium ein elektronischer Spei-  
cherchip (20), ein Magnetstreifen (22) und/oder ein Bar-  
code (24) ist.
- 30 14. Analysechip (2) nach einem der vorherigen Ansprüche, wo-  
bei der Träger (4) ferner Justiermittel (18) zum exakten  
Einlegen in einen Analysator aufweist.
- 35 15. Analysechip (2) nach einem der Ansprüche 3 bis 14, wobei  
der Träger (4) ein Mikrospritzguß-Element ist.
16. Analysechip (2) nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
wobei die Biomolekülmatrix (16) mindestens doppelt re-  
dundant vorhanden ist.

- 1 17. Analysechip (2) nach einem der Ansprüche 9 bis 16, wobei  
die mikrofluidische Struktur (10) einen mäanderförmigen  
Kanal bildet.
- 5 18. Analysechip (2) nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
wobei an einer Unterseite (28) des Trägers (4) ein opti-  
sches Linsenfeld (30; 36) vorgesehen ist.
- 10 19. Analysechip (2) nach Anspruch 18, wobei das Linsenfeld  
(36) ein zweidimensionales Fresnel-Linsenfeld ist.
20. Analysechip (2) nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
wobei entsprechend der Biomolekülmatrix (16) eine Viel-  
zahl optischer Gitter (32) vorgesehen ist.
- 15 21. Analysechip (2) nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
wobei zur Auswertung der biologischen Proben der Analy-  
sechip (2) so ausgestaltet ist, daß die Biomolekülmatrix  
(16) von einer der der Oberfläche (6) gegenüberliegenden  
20 Unterseite (28) mit Lichtstrahlen (26; 34) von einer  
Lichtquelle beaufschlagt werden kann.
22. Verwendung des Analysechips (2), insbesondere nach einem  
der vorhergehenden Ansprüche, zur Untersuchung von DNA-,  
25 RNA-Molekülen, Proteinen, Peptiden und/oder Polysaccha-  
riden.
23. Verfahren zur Analyse von Biomolekülen auf einem Analy-  
sechip, insbesondere nach einem der vorhergehenden An-  
sprüche, mit den folgenden Verfahrensschritten:
- 30 (a) Aufbringen einer zu analysierenden Probe auf eine  
Oberfläche (6), die mindestens eine Biomolekülmatrix  
(16) aufweist;
- (b) Überströmen der Biomolekülmatrix (16) durch die  
Probe entlang einer mikrofluidischen Struktur;
- 35 (c) Einlegen des Analysechips (2) in einen Analysator;  
und  
(d) Auswerten des Analysechips (2).

1

24. Verfahren nach Anspruch 23, wobei die Auswertung des Analysechips (2) durch Einstrahlen von Licht von einer Unterseite (28) des Analysechips (2) erfolgt.

5

10

25. Verfahren nach Anspruch 23 oder 24, wobei die Auswertung des Analysechips (2) durch Lichteinkopplung über ein optisches Linsenfeld (36) und Gitter (32) erfolgt, wobei jedes Gitter (32) jeweils einem Punkt (16) der Biomolekülmatrix zugeordnet ist und das optische Linsenfeld (36) die einfallenden Lichtstrahlen auf die jeweiligen Gitter (32) fokussiert, so daß bei einer Massenanlage- rung das evaneszente Feld beeinflußt und diese Beein- flussung im Fernfeld meßbar wird.

15

20

26. Verfahren nach Anspruch 23 oder 24, wobei die Auswertung des Analysechips (2) durch Lichteinkopplung über ein Linsenfeld (36) erfolgt, das am Analysechip (2) inte- griert ist und eine konfokale Beleuchtung bewirkt, so daß entsprechend markierte Systeme einen optisch erkenn- baren Reaktionsnachweis liefern.

25

30

35



Fig. 1

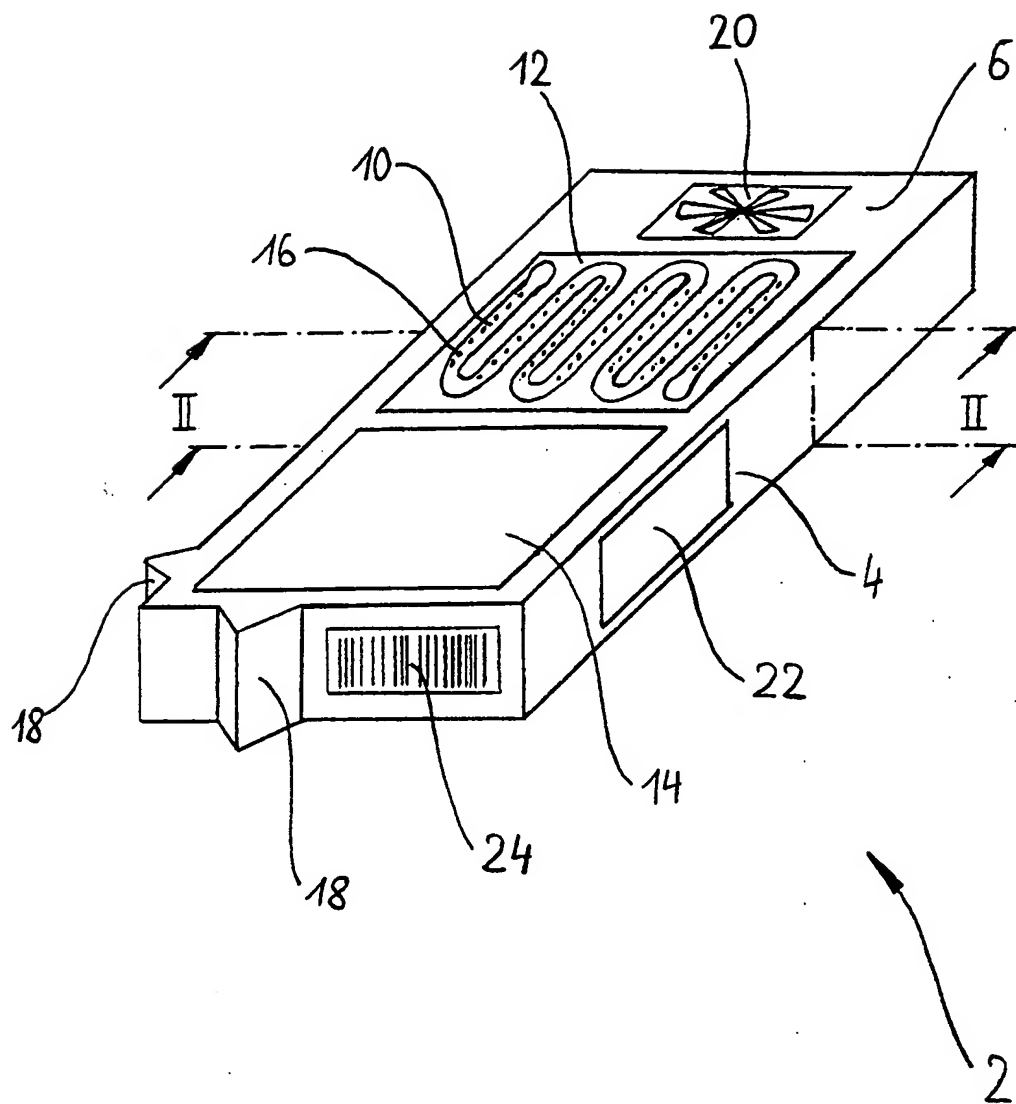
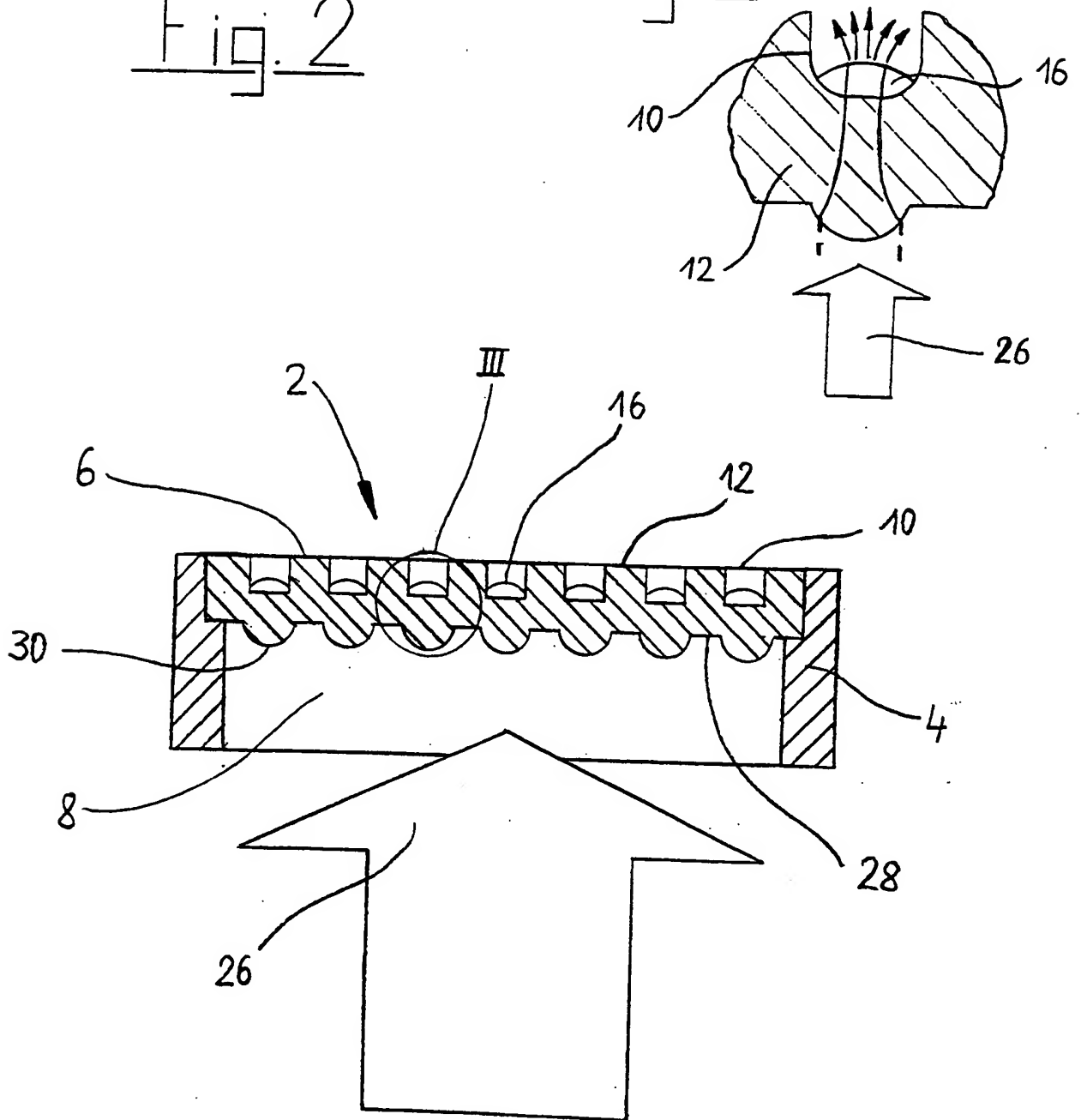
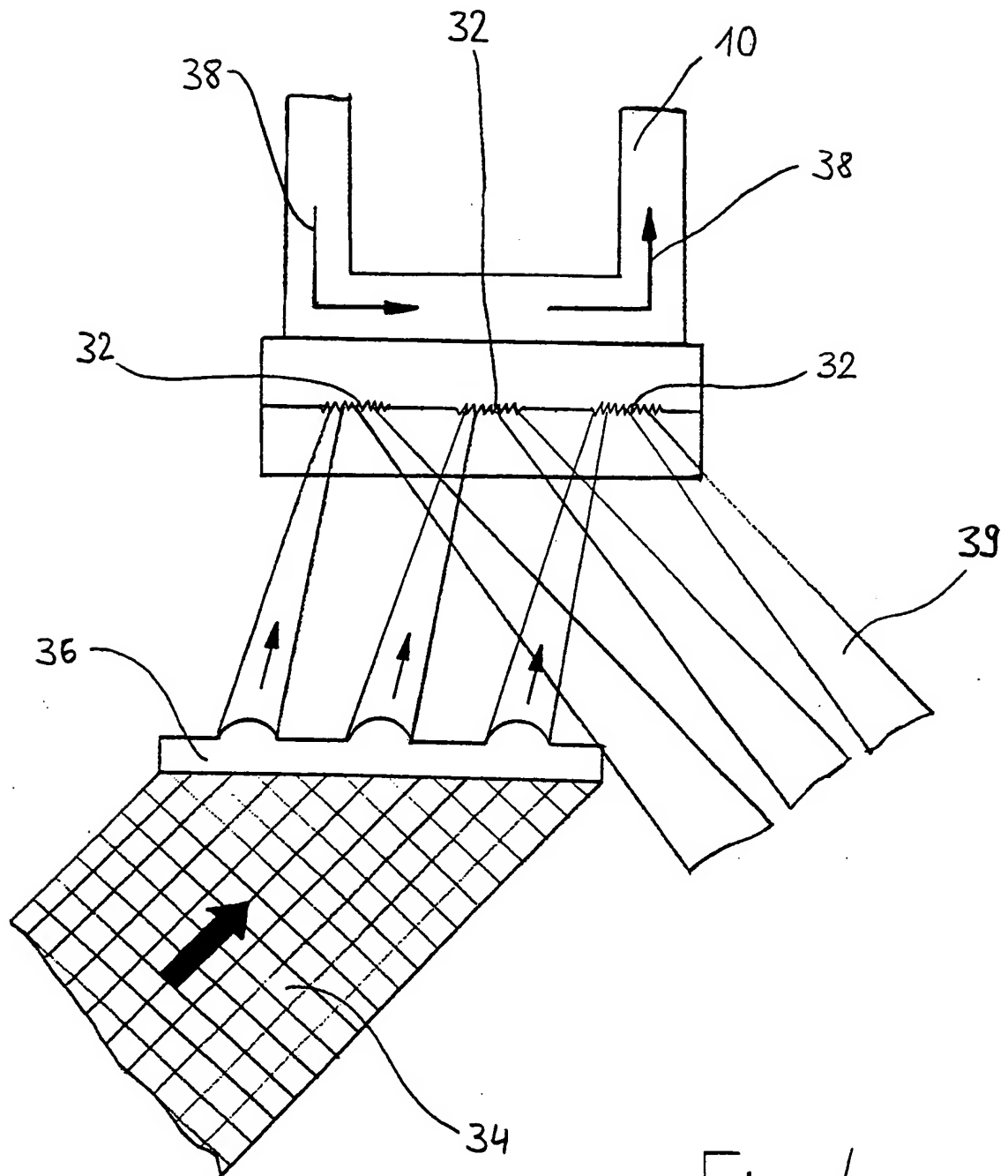


Fig. 2

Fig. 3



Fig. 4



<p>(51) Internationale Patentklassifikation <sup>6</sup> :  <b>G01N 33/543, C12Q 1/68</b></p>	<b>A3</b>	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: <b>WO 99/57310</b></p> <p>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 11. November 1999 (11.11.99)</p>
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/02918</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 29. April 1999 (29.04.99)</p> <p>(30) Prioritätsdaten:          198 19 537.0      30. April 1998 (30.04.98)      DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): BIOCHIP TECHNOLOGIES GMBH [DE/DE]; Engesserstrasse 4b, D-79108 Freiburg (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und          (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BERNAUER, Hubert, S. [DE/DE]; Webergasse 38, D-79249 Merzhausen (DE).</p> <p>(74) Anwalt: VOSSIUS &amp; PARTNER; Siebertstrasse 4, D-81675 München (DE).</p>	<p>(81) Bestimmungsstaaten: AE, AL, AM, AT, AT (Gebrauchsmuster), AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE (Gebrauchsmuster), DK, DK (Gebrauchsmuster), EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p><b>Veröffentlicht</b>  <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i>  <i>Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i></p> <p>(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts: 9. März 2000 (09.03.00)</p>	

(54) Title: INSTRUMENT FOR ANALYSIS AND DIAGNOSTICS

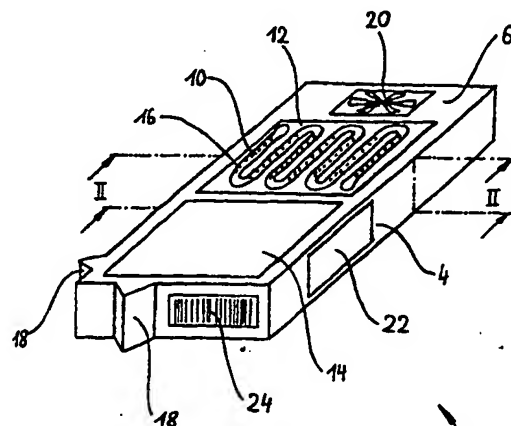
(54) Bezeichnung: ANALYSE- UND DIAGNOSTIKINSTRUMENT

(57) Abstract

The invention relates to an analysis and diagnostics instrument – an analysis chip for examining biological samples. Said analysis chip essentially consists of a support on whose surface at least one biomolecular matrix is applied in the form of dots, each dot in the matrix representing an individual species of molecule. The biological sample to be examined is allowed to flow through a microfluidic structure. Preferably at least one medium is provided on the surface of the support, the biomolecular matrix being located on said medium. The analysis chip also has an optical lens field and optionally, optical gratings which are arranged in such a way as to correspond to the biomolecular matrix. An analysis of the biological sample can then be carried out by real-time measurement of the hybridisation with detection of the mass attachment or detection of fluorochrome molecules which were previously built into the probe material.

(57) Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft ein Analyse- bzw. Diagnostikinstrument – kurz Analysechip – mit dem biologische Proben untersucht werden können. Der Analysechip besteht im wesentlichen aus einem Träger, auf dessen Oberfläche mindestens eine Biomolekülmatrix in Form von Dots aufgebracht ist, wobei jeder Punkt der Matrix eine individuelle Molekülspezies repräsentiert und die zu untersuchende biologische Probe durch eine mikrofluidische Struktur strömt. An der Oberfläche des Trägers ist vorzugsweise mindestens ein Medium vorgesehen, auf dem sich die Biomolekülmatrix befindet. Der Analysechip weist ferner ein optisches Linsenfeld und gegebenenfalls entsprechend der Biomolekülmatrix angeordnete optische Gitter auf, so dass eine Auswertung der biologischen Probe durch Echtzeit-Messung der Hybridisierung mit einem Nachweis der Massenanlagerung oder ein Nachweis von Fluorochrommolekülen, die zuvor in das Sondenmaterial eingebaut wurden, möglich ist.



### LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbajdschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern: al Application No

PCT/EP 99/02918

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
 IPC 6 G01N33/543 C12Q1/68

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 G01N C12Q

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 535 242 A (INST MOLEKULARNOI BIOLOG IM V) 7 April 1993 (1993-04-07) claims 6-9 page 4, line 7 - line 22 figures 1,2	1,3-26
P,Y	--- WO 99 15888 A (ACLARA BIOSCIENCES INC) 1 April 1999 (1999-04-01) claims figures	1,9
P,Y	--- WO 98 56956 A (SUNDBERG STEVEN A ;CHOW ANDREA W (US); COHEN CLAUDIA B (US); CALIP) 17 December 1998 (1998-12-17) claims figures 1,7 --- -/-	1,9

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

## ° Special categories of cited documents :

\*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

\*E\* earlier document but published on or after the international filing date

\*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

\*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

\*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

\*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

\*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

\*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

\*Z\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

5 October 1999

Date of mailing of the international search report

11. 01. 2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
 NL - 2280 HV Rijswijk  
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Routledge, B

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 99/02918

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,Y	WO 98 45481 A (KNAPP MICHAEL ;BOUSSE LUC J (US); CALIPER TECHN CORP (US); KOPF SI) 15 October 1998 (1998-10-15) claims figures	1,9
P,X	--- US 5 851 772 A (DUBILEY SVETLANA ALEKSEEVNA ET AL) 22 December 1998 (1998-12-22) claims column 2, line 36 - line 42 column 7, line 54 -column 8, line 63 column 3, line 55 -column 4, line 15	1,3-26
P,X	--- US 5 770 721 A (ERSHOV GENNADY MOISEEVICH ET AL) 23 June 1998 (1998-06-23) claims 1-4 See WO 95/04834, published 16/02/95 column 3, line 6 -column 4, line 51	1,3-26
A	--- US 5 661 028 A (FOOTE ROBERT S) 26 August 1997 (1997-08-26) claims figures 1,2 column 3, line 10 - line 50	1,3-26
A	--- US 5 284 622 A (KRAUSE MANFRED ET AL) 8 February 1994 (1994-02-08) the whole document -----	1,3-26

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP 99 / 02918

**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
  
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
  
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

1, 3-26 (in part)

**Remark on Protest**☐

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

☐

No protest accompanied the payment of additional search fees.



## 1. Claim nos.: 1, 3-26 (in part)

Analysis chip for examining biological samples, with a support to whose surface at least one biomolecular matrix is applied by covalent coupling of biomolecules to semi-fluidic, gel-type polymer surfaces in the area of the samples. An analysis chip with a microfluidic surface structure.

## 2. Claim nos.: 2, 3-26 (in part)

Analysis chip for examining biological samples, with a support to whose surface at least one biomolecular matrix is applied, the biological sample to be examined flowing over each biomolecular matrix and the analysis chip having at least one storage medium.

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0535242	A	07-04-1993	WO 9216655 A	01-10-1992
			SU 1794088 A	07-02-1993
			DE 69221980 D	09-10-1997
			DE 69221980 T	12-02-1998
			JP 6507486 T	25-08-1994
			US 5552270 A	03-09-1996
			AT 157706 T	15-09-1997
-----				
WO 9915888	A	01-04-1999	AU 9472198 A	12-04-1999
-----				
WO 9856956	A	17-12-1998	AU 7832198 A	30-12-1998
-----				
WO 9845481	A	15-10-1998	AU 6884198 A	30-10-1998
-----				
US 5851772	A	22-12-1998	NONE	
-----				
US 5770721	A	23-06-1998	RU 2041261 C	09-08-1995
			WO 9504834 A	16-02-1995
-----				
US 5661028	A	26-08-1997	US 5944971 A	31-08-1999
-----				
US 5284622	A	08-02-1994	DE 4132743 A	08-04-1993
			AT 138198 T	15-06-1996
			DE 59206290 D	20-06-1996
			DK 535480 T	14-10-1996
			EP 0535480 A	07-04-1993
			ES 2087385 T	16-07-1996
			GR 3020126 T	31-08-1996
			JP 5209872 A	20-08-1993
-----				

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES  
IPK 6 G01N33/543 C12Q1/68

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 6 G01N C12Q

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	EP 0 535 242 A (INST MOLEKULARNOI BIOLOG IM V) 7. April 1993 (1993-04-07) Ansprüche 6-9 Seite 4, Zeile 7 - Zeile 22 Abbildungen 1,2	1,3-26
P,Y	WO 99 15888 A (ACLARA BIOSCIENCES INC) 1. April 1999 (1999-04-01) Ansprüche Abbildungen	1,9
P,Y	WO 98 56956 A (SUNDBERG STEVEN A ;CHOW ANDREA W (US); COHEN CLAUDIA B (US); CALIP) 17. Dezember 1998 (1998-12-17) Ansprüche Abbildungen 1,7	1,9
	---	
	---	
	---	
	-/--	

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

\*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

\*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

\*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

\*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

\*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

\*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

\*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

\*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

\*Z\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

5. Oktober 1999

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

11. 01. 2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Routledge, 8

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P,Y	WO 98 45481 A (KNAPP MICHAEL ;BOUSSE LUC J (US); CALIPER TECHN CORP (US); KOPF SI) 15. Oktober 1998 (1998-10-15) Ansprüche Abbildungen ---	1,9
P,X	US 5 851 772 A (DUBILEY SVETLANA ALEKSEEVNA ET AL) 22. Dezember 1998 (1998-12-22) Ansprüche Spalte 2, Zeile 36 - Zeile 42 Spalte 7, Zeile 54 -Spalte 8, Zeile 63 Spalte 3, Zeile 55 -Spalte 4, Zeile 15 ---	1,3-26
P,X	US 5 770 721 A (ERSHOV GENNADY MOISEEVICH ET AL) 23. Juni 1998 (1998-06-23) Ansprüche 1-4 See WO 95/04834, published 16/02/95 Spalte 3, Zeile 6 -Spalte 4, Zeile 51 ---	1,3-26
A	US 5 661 028 A (FOOTE ROBERT S) 26. August 1997 (1997-08-26) Ansprüche Abbildungen 1,2 Spalte 3, Zeile 10 - Zeile 50 ---	1,3-26
A	US 5 284 622 A (KRAUSE MANFRED ET AL) 8. Februar 1994 (1994-02-08) das ganze Dokument -----	1,3-26

**Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)**

Gemäß Artikel 17(2)a wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☐ Ansprüche Nr.  
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
  
2. ☐ Ansprüche Nr.  
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
  
3. ☐ Ansprüche Nr.  
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

**Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)**

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
  
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
  
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
  
4. ☒ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:  
1, 3-26(teilweise)

**Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs**

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☐ Die Zahlung zusätzlicher Recherchengebühren erfolgte ohne Widerspruch.

## WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

## 1. Ansprüche: 1, 3-26 (teilweise)

Analysechip zur Untersuchung von biologischen Proben, der einen Träger aufweist, auf dessen Oberfläche mindestens eine Biomolekülmatrix durch covalente Kopplung von Biomolekülen an semifluidische, gelartige Polymeroberflächen im Bereich der Proben aufgebracht ist. Analysechip mit einer mikrofluidischen Oberflächenstruktur.

## 2. Ansprüche: 2, 3-26 (teilweise)

Analysechip zur Untersuchung von biologischen Proben, der einen Träger aufweist, auf dessen Oberfläche mindestens eine Biomolekülmatrix aufgebracht ist, wobei die zu untersuchende biologische Probe über jede Biomolekülmatrix strömt und der Analysechip mindestens ein Speichermedium aufweist.

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 0535242 A	07-04-1993	WO 9216655 A	01-10-1992
		SU 1794088 A	07-02-1993
		DE 69221980 D	09-10-1997
		DE 69221980 T	12-02-1998
		JP 6507486 T	25-08-1994
		US 5552270 A	03-09-1996
		AT 157706 T	15-09-1997
WO 9915888 A	01-04-1999	AU 9472198 A	12-04-1999
WO 9856956 A	17-12-1998	AU 7832198 A	30-12-1998
WO 9845481 A	15-10-1998	AU 6884198 A	30-10-1998
US 5851772 A	22-12-1998	KEINE	
US 5770721 A	23-06-1998	RU 2041261 C	09-08-1995
		WO 9504834 A	16-02-1995
US 5661028 A	26-08-1997	US 5944971 A	31-08-1999
US 5284622 A	08-02-1994	DE 4132743 A	08-04-1993
		AT 138198 T	15-06-1996
		DE 59206290 D	20-06-1996
		DK 535480 T	14-10-1996
		EP 0535480 A	07-04-1993
		ES 2087385 T	16-07-1996
		GR 3020126 T	31-08-1996
		JP 5209872 A	20-08-1993